

УДК 576.893.192

ADELINA GRYLLI SP. N.
(APICOMPLEXA: COCCIDIA: ADELEIDAE)
ИЗ СВЕРЧКА GRYLLUS BIMACULATUS

© Ф. Г. Бутаева

Приведено описание нового вида аделеидных кокцидий, паразитирующих в жировом теле сверчка *Gryllus bimaculatus*. Лабораторная культура сверчков, на которой было проведено исследование, берет начало из природных популяций (окрестности г. Ашгабата, Туркменистан). Экспериментально прослежено развитие паразита в хозяине. Проведено морфологическое и цитохимическое изучение всех основных стадий жизненного цикла, полученных из экспериментально и спонтанно зараженных сверчков.

В настоящее время известно 20 видов рода *Adelina* Hesse, 1911 – гомоксенных представителей отряда Adeleida, паразитирующих в беспозвоночных животных, главным образом в Arthropoda.

Описание большинства видов произведено на основе неполного набора стадий жизненного цикла паразита, чаще всего по ооцистам. Приводимых в работах данных подчас недостаточно, чтобы можно было признать эти описания валидными. Очень часто описания новых видов приводятся без дифференциального диагноза.

Лишь 4 вида описаны на основе изучения паразитов из экспериментально зараженных хозяев. Однако только в эксперименте можно точно идентифицировать каждую стадию и определить ее место в жизненном цикле. Это уменьшает вероятность ошибок в распознавании стадий развития паразита из спонтанно зараженных животных. Без этого же практически невозможно дифференцировать виды по признакам расселительных стадий, которые характеризуются полиморфизмом. Наша интерпретация стадий паразита основана на изучении его жизненного цикла в экспериментально зараженной культуре сверчков. Но для определения морфологических характеристик стадий были использованы паразиты из разных особей спонтанно зараженной культуры хозяев, что позволило выяснить размах морфологической изменчивости разных стадий. Нами выявлены следующие стадии жизненного цикла паразита: спорозоит, меронт, мерозоит, шизонты – мужской и женский, зоицы – мужской и женский, сизигий, микрогамета, ооциста, спороциста.

Названием „мерозоит” мы обозначаем недифференцированную расселительную стадию цикла. Для типа шизонта, дающего мерозоиты, использовано название „меронт”. Два других типа шизонтов, дающих половые стадии, называются „женский шизонт” и „мужской шизонт”. Половые зоицы, образующиеся из них в процессе шизогонии, называются соответственно „женский зойт” и „мужской зойт”.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Основой лабораторной культуры стали зараженные сверчки, завезенные из окрестностей Ашгабата. Культура содержалась в стандартных условиях (Князев, 1985) при температуре 24–27°, влажности 42–66 %, фотопериода 12 × 12 ч.

Для выведения культур, свободных от заражения, из исходной культуры отбирали порции синхронно отложенных яиц, переносили на стерильный субстрат и содержали при вышеописанных условиях. Для работы использовали личинок 3-го возраста, которые считаются наименее стойкими к инфекциям (Вейзер, 1974). Из-за их небольшого (около 6 мм в длину) размера возможно просмотреть большую часть жировой ткани каждого однократно зараженного сверчка для установления динамики появления тех или иных стадий паразита в ходе реализации его цикла.

Источником инвазионного начала служили спонтанно инвазированные сверчки исходной культуры, в которых в массе содержатся зрелые ооциты. Для исключения возможности заражения промежуточными стадиями (мерозоитами) вскрытых сверчков выдерживали в течение суток (срок выдержки определен посредством визуального контроля при комнатной температуре), не допуская, однако, их высушивания (высушивание убивает ооциты), после чего вскрытых сверчков скормливали незараженным личинкам. Затем личинок рассаживали по одной для исключения возможности каннибализма. При использовании такой методики оказывалось зараженными 70 % сверчков. Для установления сроков самых начальных этапов жизненного цикла – высвобождения спорозоитов и выхода их из кишки в жировое тело – использовали методику насильственного заражения: в рот личинок помещались препаровальной иглой равные кусочки заранее подготовленного жирового тела.

В течение первых двух суток после заражения вскрывали по 3–6 личинок каждые 2 ч, последующие двое суток – по 4–5 личинок каждые 5–6 ч.

От 3-х до 60-х суток вскрывали по 10 личинок в сутки. От 60-х до 70-х суток вскрывали только погибших хозяев, и после 70-х были вскрыты все оставшиеся (4 личинки).

Одновременно был поставлен контроль на сверчках из той же популяции, свободных от заражения. Их также содержали по одному и вскрывали с той же периодичностью, что и опытных. Всего в экспериментах использовано около 800 личинок.

Наблюдения и фотосъемку проводили на микроскопах Lobaival и МБС-15 с помощью фазово-контрастного устройства *in vivo* и посредством микроскопирования влажных мазков и срезов. Для изготовления мазков жирового тела и содержимого кишечника применялась фиксация смесью Шаудина и окрашивание гематоксилином Бемера. Для выявления половой дифференцировки гамонтов были проведены PAS-реакция и реакция Фельгена. Контролем PAS-реакции служила обработка слюной.

Определение размеров стадий и статистическая обработка данных проводились отдельно для фиксированного (мазков) и нефиксированного материала. Для каждого случая в тексте указано среднее значение размерной характеристики, ошибка среднего и коэффициент вариации, данный в круглых скобках. Все размерные характеристики выражены в микрометрах.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Заражению может быть подвержено до 100 % спонтанно инвазированной культуры. Паразит обнаруживается в имаго и личинках всех возрастов начиная с четвертого. В более молодых личинках паразит, вероятно, находится на одной из

своих ранних стадий, как правило, малочисленных. Кроме того, стадия трофозойта – округлившегося, но еще одноядерного меронта аделин – трудно дифференцируема из-за внешнего сходства с клетками хозяина, что было уже отмечено в литературе (Yarwood, 1937).

Паразит локализуется в жировом теле. При вскрытии жировое тело выглядит уменьшившимся в объеме и серым от присутствия множества меланизированных многослойных соединительнотканых капсул, образованных клетками гемолимфы насекомого вокруг паразита.

Интенсивность заражения спонтанно инвазированных хозяев, как правило, очень высока. Вся масса жировой ткани оказывается заполненной паразитами, лежащими вплотную друг к другу.

Изредка паразиты могут быть обнаружены в соединительнотканной оболочке кишечника. Чаще всего они залегают поверхностно со стороны полости тела и никогда не встречаются в энтероцитах. Однако соединительнотканную локализацию вряд ли можно считать нормальной – мы никогда не наблюдали при этом зрелых ооцист. „Кишечные” стадии обычно окружаются гораздо более мощными соединительнотканными капсулами, чем локализующиеся в жировом теле. Внутри капсул иногда удается распознать стадию меронта. В основном они оказываются заполненными деградирующим меланизированным материалом.

Внешне зараженные сверчки не отличаются от незараженных. Зрелые ооцисты накапливаются в жировом теле. Заражение передается контактинативным путем при некрофагии, обычной в популяциях сверчков.

Из заглоченных ооцист в кишечнике сверчка высвобождаются спорозоиты. Аутоинвазия хозяина путем самопроизвольного вскрытия спорулированных ооцист в жировой ткани не наблюдалась.

Спорозоит червеобразен, способен к изгибанию, сжатию, удлинению, сворачиванию с последующим резким распрямлением, к круговым и монотонным колебательным движениям. Это наиболее крупная из всех подвижных стадий паразита: 25 ± 0.77 (9) \times 5.5 ± 0.2 (11). Ядро 3.4 ± 0.14 (14) \times 2 ± 0.18 (30).

Цитоплазма меронта гомогенна и базофильна. Ядро одноядерного меронта диаметром 5.6 ± 0.66 (20) очень слабо прокрашивается по Фельгену и гематоксилином. В результате роста, сопровождающегося пролиферацией ядер, меронт достигает размеров 25.6 ± 0.98 (16) \times 16.4 ± 0.83 (21). Цитоплазма его по-прежнему гомогенна, очень базофильна. Число ядер зрелого меронта от 20 до 50, обычно около 40. Ядра, как и у других типов зрелых шизонтов, компактны, интенсивно окрашиваются по Фельгену и гематоксилином. Диаметр ядра 3 ± 0.34 (38). Сформировавшиеся мерозоиты оказываются лежащими в двух взаимоперпендикулярных направлениях, спирально или параллельно друг другу (см. рисунок, 1; см. вкл.).

Мерозоит (см. рисунок, 4) червеобразен, способен к продолжительному активному движению. Размеры: 22.6 ± 1.34 (18) \times 2.4 ± 0.23 (29), ядро 4.35 ± 0.27 (21) \times 2 ± 0.19 (13). Цитоплазма гомогенна, менее базофильна, чем у меронта. Ядро, как и у других типов зоитов, компактно, ярко окрашивается по Фельгену и гематоксилином.

Женский шизонт, дающий начало женским зоитам, обычно достигает 23.9 ± 0.99 (14) \times 16.8 ± 0.61 (13). Цитоплазма его окрашивается так же, как и цитоплазма меронта, но отличается от нее характерной альвеолярностью. Число ядер от 9 до 21, чаще 12 или 16. Ядра сегментированного шизонта диаметром 3.4 ± 0.22 (29). В отличие от мерозоитов женские зоиты располагаются только параллельно друг другу, так что их ядра в сегментированных женских шизонтах на мазках и срезах образуют один ряд (см. рисунок, 2). От меронтов их также отличает наличие крупного остаточного тела.

Мужской шизонт, дающий начало мужским зоитам, отличается от других

типов шизонтов очень базофильной цитоплазмой. Число ядер обычно 8–10, может быть до 16. Мужской шизонт 21.4 ± 0.51 (8) \times 14.4 ± 0.54 (12.5). Диаметр ядер 4.3 ± 0.2 (19). Зоиты располагаются у двух полюсов, так что на мазках и срезах их ядра образуют два параллельных ряда, в центре лежит остаточное тело (см. рисунок, 3). Характерно, что остаточное тело интенсивно окрашивается при проведении PAS-реакции, являясь, следовательно, мощным энергетическим фундаментом для развития гамонтов.

Женский зоит (см. рисунок, 5) 20.9 ± 1.11 (18) \times 4 ± 0.29 (24) [22.1 ± 0.82 (13) \times 3.6 ± 0.22 (21)],¹ червеобразной формы. Ядро 4.4 ± 0.3 (26) \times 2.1 ± 0.6 (29), в ядре выявляются 1–2 крупных центрально лежащих ядрышка.

Молодой мужской гамонт – укороченный, 11.4 ± 0.8 (25.5) \times 4.6 ± 0.17 (13.5) [16.9 ± 0.62 (12) \times 4.6 ± 0.38 (27)], яйцевидной формы (см. рисунок, 5). В ядре, 4.1 ± 0.24 (24), выявляется лишь одно ядрышко, обычно более крупное, чем у женского гамонта.

Ни реакция Фельгена, ни PAS-реакция не выявляют у ранних гамонтов никаких дополнительных признаков половой дифференцировки.

Сизигий (см. рисунок, 6) составляют гамонты, размеры которых: макрогамонт 24.5 ± 5.32 (57) \times 18.8 ± 4.49 (63) [20.5 ± 2.89 (42) \times 17.1 ± 2.78 (49)], микрогамонт 7.5 ± 0.58 (17.5) \times 5.5 ± 0.54 (22) [9.6 ± 0.78 (23) \times 7.45 ± 0.75 (28.5)].

Гамонты в составе сизигия впервые становятся различимыми по полу цитохимически. PAS-реакция выражена у мужского гамонта слабее, чем у прилежащего женского гамонта, и начинает выявляться позже. Ядра гамонтов, формирующих сизигий, независимо от пола слабо окрашиваются по Фельгену, но при подкрашивании срезов лихт-грюном можно выявить половой диморфизм по большей базофильности цитоплазмы мужского гамонта.

Созревший микрогамонт претерпевает микрогаметогенез. При этом базофильность цитоплазмы гамонта резко увеличивается и появляются 4 ярко окрашивающихся по Фельгену ядра микрогамет (см. рисунок, 7).

Размеры микрогаметы 3.5 ± 0.23 (20) \times 2.45 ± 0.39 (43). Ядро, занимающее большую часть объема микрогаметы, ярко окрашивается по Фельгену и гематоксилином.

Ооциты 36.3 ± 2.39 (21) \times 30.1 ± 2.27 (24) [32.5 ± 2.19 (21) \times 27.4 ± 2.19 (25)]. Цитоплазма базофильная, характерно альвеолярная. Ядро не выявляется реакцией Фельгена (см. рисунок, 8). PAS-реакция вызывает интенсивное окрашивание. Ядра начинают слабо выявляться реакцией Фельгена впервые тогда, когда их количество достигает 2–3 (см. рисунок, 9). Постепенно их число увеличивается, хроматин в них компактизируется. В то же время накопленный за период гамонто- и гаметогенеза резервный материал начинает интенсивно расходоваться, о чем говорит отсутствие окрашивания после проведения PAS-реакции в ооцитах в направлении от центра к периферии. Окончательное число ядер в ооците варьирует от 4 до 22, но чаще их 6–10. Вокруг них происходит обособление участков цитоплазмы (см. рисунок, 9, 10). Это формируются споробласты. Споробласты округлы, окружены хорошо проницаемой для реактивов оболочкой, так что одноядерные споробласты в отличие от спороцист не деформируются при гистологических процедурах. Цитоплазма их слабо базофильная, гомогенная, ядро компактно, но PAS-реакция окрашивания не вызывает. Ядро споробласта делится (см. рисунок, 11), затем формируются 2 спорозои, лежащих крест-накрест под плотной оболочкой спороцисты (см. рисунок, 12). Диаметр спороцист, содержащих спорозои, 9.9 ± 0.22 (9) [13.3 ± 0.32 (7)].

¹ В прямых скобках приведены данные промеров нефиксированного материала.

Особенности размеров и формы отдельных стадий делают правомочным выделение паразита в особый вид, для которого, по названию рода хозяина, предлагается название „*grylli*”.

Adelina grylli sp. n.

Хозяин – *Gryllus bimaculatus* Deg.

Локализация – жировое тело.

Место и время обнаружения – лабораторная культура сверчков, берущая начало из природных популяций окрестностей Ашгабата (Туркменистан), январь 1988 г.

Диагноз (размеры даны в микрометрах). Спорозонт 25×5.5 , ядро 3.4×2 .

Меронт 25.6×16.4 . Число ядер 20–50, обычно около 40. Диаметр ядер – 3. Мерозоиты чаще формируются в двух взаимно перпендикулярных направлениях, иногда параллельно друг другу или спирально. Остаточное тело не выявлено.

Мерозоит 22.6×2.4 , ядро 4.35×2 .

Женский шизонт 23.9×16.8 . Число ядер 9–21, обычно 12–16. Диаметр ядер 3.4 мкм. Женские зоиты лежат параллельно друг другу. Ядра сегментированных шизонтов располагаются в ряд экваториально. Остаточное тело присутствует.

Мужской шизонт 21.4×14.4 . Число ядер 5–16, чаще 8–10. Диаметр ядер 4.3. Расположение мужских зоитов двухполюсное. Ядра на препаратах выявляются двумя параллельными рядами субэкваториально. Остаточное тело присутствует.

Женский зоит 20.9×4 [22.1×3.6], ядро 4.4×2.1 . Мужской зоит 11.4×4.6 [16.9×4.6], ядро 4.1. Сизигий: макрогамонт 24.5×18.8 [20.5×17.1], микрогамонт 7.5×5.5 [9.6×7.45], микрогамета 3.5×2.45 . Ооциты 36.3×30.1 [32.5×24.7]. Число спороцист в ооцитах 4–22, обычно 6–10. Спороцисты, 9.9 [13.3], несут по 2 спорозонта.

Дифференциальный диагноз. Виды рода *Adelina* различаются по виду хозяина, локализации в нем, размерам стадий развития, числу зоитов в шизонтах, числу спороцист в ооцитах.

Наибольшее число сходных черт обнаруживается у описываемого вида с *A. melolontha* (здесь и далее Tuzet et al., 1965). Это близкие размеры мужского и женского шизонтов и зоитов, число ядер мужского шизонта. Но длина мерозоита *A. melolontha* 15, а мерозоита *A. grylli* – 22.6 ± 1.34 .² Ооциты *A. melolontha* достигают 30–35 в диаметре, размеры ооцита *A. grylli* $36.3 \pm 2.39 \times 30.1 \pm 2.27$. Число спороцист в ооците *A. melolontha* 6–14, *A. grylli* – 4–22. Диаметр спороцисты *A. melolontha* 11, *A. grylli* – 9.9 ± 0.22 . Диаметр женского гамонта сизигия *A. melolontha* 30–35, размеры соответствующей стадии *A. grylli* $24.5 \pm 5.32 \times 18.8 \pm 4.49$.

Новый вид сходен с видом *A. transita* (здесь и далее Leger, 1904) по числу спороцист в ооците: 6–20 – у *A. transita*, 4–22 – у *A. grylli*. Но диаметр спороцисты *A. transita* [10–11], а диаметр спороцисты *A. grylli* [13.3 ± 0.32]. Диаметр ооцисты *A. transita* [30–40], размеры ооцисты *A. grylli* [$32.5 \pm 2.19 \times 27.4 \pm 2.19$]. По размерам цистных стадий новый вид сходен только с *A. tribolii* (Bhatia, 1937), но число спороцист в ооците *A. tribolii* не превышает 14 (Bhatia, 1937), тогда как у *A. grylli* доходит до 22.

² Нами использованы при сравнении данные промеров стадий *A. grylli* из фиксированного или нефиксированного материала в соответствии с тем, какой материал был использован авторами первоописаний.

Список литературы

- Вейзер Я. Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми. Л.: Наука, 1974. 640 с.
- Князев А. И. Цикл развития сверчка *Gryllus bimaculatus* (Orthoptera, Gryllidae) в условиях лабораторного содержания // Энтомол. обозр. 1985. Т. 64, вып. 1. С. 58–73.
- Bhatia M. On *Adelina tribolii*, a coccidian parasite of *Tribolium ferrugineum* F. // Parasitology. 1937. Vol. 29, N 2. P. 239–246.
- Leger L. Sporozoaires parasites de l'*Embia solieri* Rambur // Arch. Protistenk. 1904. Bd 3. P. 356–366.
- Tuzet C., Vago C., Ormieres R., Robert P. *Adelina melolonthae* n. sp., coccidie parasite des larves de *Melolontha melolontha* // Arch. Zool. exp. et gen. 1965. T. 106. P. 513–521.
- Yarwood E. The life cycle of *Adelina cryptocerci* n. sp., a coccidian parasite of the roach *Cryptocercus punctulatus* // Parasitology. 1937. Vol. 29. P. 370–390.

Санкт-Петербургский государственный университет
199034

Поступила 15.06.1995

ADELINA GRYLLI SP. N. (APICOMPLEXA, COCCIDIA, ADELEIDAE) FROM THE CRICKET GRYLLUS BIMACULATUS

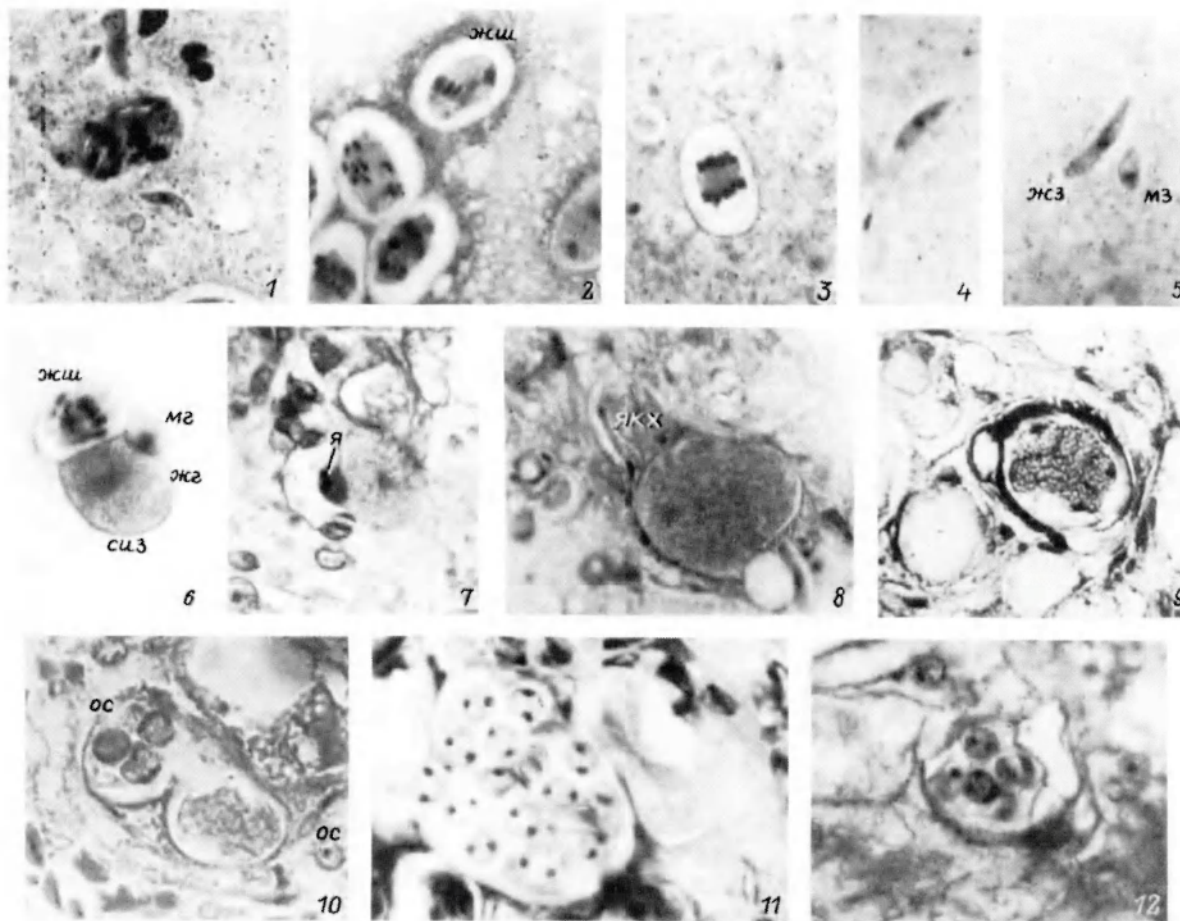
F. G. Butaeva

Key words: new species, adeleid coccidia, fat body.

SUMMARY

A description of a new species of homoxenous adeleid coccidia is given. Host – imago and nymphs of *Gryllus bimaculatus* Deg. Localization – fat body. Point of discovery – laboratory culture of crickets from natural populations of surrounding of Ashkhabat (Turkmenistan). Diagnosis (all dimensions are given in micrometres, in straight brackets are given dimensions of fresh material). Sporozoite – vermiform, 25×5.5 , nucleus 3.4×2 . Meront – 25.6×16.4 , gives rise to 20–40, usually about 40 merozoites packed either perpendicular or parallel to each other or laying spirally; residual body has not been found. Merozoite – vermiform, 22.6×2.4 , nucleus 4.35×2 . Female schizont – 23.9×19.8 , gives rise to 9–21, usually 12–16 female zoites (macrogamonts) packed parallelly to each other with residual body. Male schizont – 24.4×14.4 , gives rise to 5–16, usually 8–10 male zoites, packed parallelly to each other in two poles of one and the same schizont. Female zoite – vermiform, 20.9×4 [22.1×3.6], nucleus 4.4×2.1 . Male zoite – oviform, 11.4×4.6 [16.9×4.6], nucleus 4.1. Syzygy: – macrogamont 24.5×18.8 [20.5×17.1], microgamont 7.5×5.5 [9.6×7.45]. Microgamete – 3.5×2.45 . Oocyst – 36.3×30.1 [32.5×24.7], the number of sporocysts in the oocysts – 4–22, usually 6–10. Sporocyst – diameter 9.9 [13.3], dizoic.

A differential diagnosis is also given. The new species is named *Adelina grylli* due to the host's generic name.



Вклейка к ст. Ф. Г. Бугаевой

Структура стадий *Adelina grylli* sp. n. из жирового тела сверчка *Gryllus bimaculatus*.

1 — меронт; 2 — женский шизонт; 3 — мужской шизонт; 4 — мерозоит; 5 — женский и мужской зоиты; 6 — сизигий; 7 — микрогаметогенез; 8 — зигота; 9 — споробластогенез; 10 — ооцисты с одноядерными споробластами; 11 — ооцисты с двухъядерными споробластами; 12 — ооцисты, содержащие спороцисты со спорозоидами: 1—5, 10—12 — окраска гематоксилином Бёмера; 6—9 — реакция Фельгена: жг — женский гамонт сизигия; жз — женский зоит; жиш — женский шизонт; мг — мужской гамонт сизигия; мз — мужской зоит; ос — одноядерный споробласт; сиз — сизигий; я — ядра микрогамонта; якх — ядро клетки хозяина.

The structure of stages of *Adelina grylli* sp. n. from the fat body of cricket *Gryllus bimaculatus*.